

Aus der Klinik und Poliklinik für Radiologie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Jens Ricke

**Die Wertigkeit der präklinischen, gitterbasierten Dunkelfeld-Radiographie  
in der Diagnostik pulmonaler Pathologien**

**Kumulative Habilitationsleistung**

zur Erlangung der Venia Legendi  
der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
für das Fach Radiologie

vorgelegt von

Dr. med. Katharina Hellbach

2018

<b>1</b>	<b>Inhaltsverzeichnis</b>	
<b>1</b>	<b>Inhaltsverzeichnis.....</b>	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>4</b>
<b>3</b>	<b>Ausgewählte pulmonale Pathologien .....</b>	<b>5</b>
<b>3.1</b>	<b>Lungenemphysem.....</b>	<b>6</b>
3.1.1	Krankheitsbild.....	6
3.1.2	Diagnostische Limitationen .....	8
<b>3.2</b>	<b>Lungenfibrose .....</b>	<b>11</b>
3.2.1	Krankheitsbild.....	11
3.2.2	Diagnostische Limitationen .....	12
<b>3.3</b>	<b>Pneumothorax .....</b>	<b>14</b>
3.3.1	Krankheitsbild.....	14
3.3.2	Diagnostische Limitationen .....	16
<b>3.4</b>	<b>Zusammenfassung und Motivation .....</b>	<b>18</b>
<b>4</b>	<b>Lungenbildgebung mittels Dunkelfeld-Radiographie.....</b>	<b>19</b>
<b>4.1</b>	<b>Physikalische Grundlagen.....</b>	<b>19</b>
<b>4.2</b>	<b>Anwendung am Kleintiermodell: Lungenemphysem, Lungenfibrose und Pneumothorax .....</b>	<b>21</b>
4.2.1	Lungenemphysem .....	23
4.2.2	Lungenfibrose.....	26
4.2.3	Pneumothorax.....	28
<b>4.3</b>	<b>Anwendung am Großtiermodell: Pneumothorax.....</b>	<b>30</b>
4.3.1	Technische Voraussetzungen .....	30
4.3.2	Dunkelfeld-Bildgebung am lebenden Schwein: Pneumothorax.....	32

<b>5</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>36</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>38</b>
<b>7</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>44</b>

## **Zusammenfassung des kumulativen Habilitationsprojekts**

### **2 Einleitung**

Im Rahmen dieses kumulativen Habilitationsprojekts wird die Dunkelfeld-Radiographie als neuartige Technik zur Darstellung und Diagnostik verschiedener Lungenerkrankungen evaluiert. In der folgenden einleitenden Zusammenfassung werden die behandelten pulmonalen Erkrankungen vorgestellt, und die mit diesen verbundenen diagnostischen Herausforderungen erläutert. Im Anschluss wird die Dunkelfeld-Radiographie als innovative Technik der Lungenbildgebung sowohl am Kleintier- als auch am Großtiermodell präsentiert. Schließen möchte ich diese Habilitationsschrift mit einer Zusammenfassung der vorgestellten Arbeiten und einem Ausblick hinsichtlich der klinischen Applikation dieser neuartigen Bildgebungs-Modalität.



### **3 Ausgewählte pulmonale Pathologien**

Im folgenden Kapitel sollen die für diese Habilitationsleistung wichtigsten pulmonalen Erkrankungen, das Lungenemphysem, die Lungenfibrose sowie der Pneumothorax, vorgestellt werden. Weitere pulmonale Pathologien (wie zum Beispiel die bronchopulmonale Dysplasie (Yaroshenko A et al., 2016), die akute Inflammation der Lunge (Hellbach K et al., 2017) und Lungentumore (Scherer K et al., 2017) sind zwar Teil der Habilitationsleistung, werden in dieser Habilitationsschrift aber nicht en Detail abgehandelt.

### **3.1 Lungenemphysem**

#### **3.1.1 Krankheitsbild**

Das Lungenemphysem ist Bestandteil des Krankheitsbildes COPD (chronic obstructive pulmonary disease). Der mit Abstand wichtigste Risikofaktor für die Entwicklung einer COPD stellt das Tabakrauchen dar (US Dept of Health and Human Services, 2014). Die Exposition gegenüber Feinstaub als Ursache für die Entstehung der COPD spielt auf Grund der steigenden Luftverschmutzung in großen Städten eine zunehmende Rolle (Guan WJ et al., 2016). Wesentlich seltener und fast ausschließlich junge Patienten betreffend, ist ein angeborener Gendefekt, der sogenannte  $\alpha$ 1-Antitrypsin-Mangel, ursächlich für die Entwicklung eines Lungenemphysems (Sandhaus RA et al., 2016). Im Jahr 2016 starben ca. drei Millionen Menschen weltweit in Folge der COPD. Damit ist diese Erkrankung die dritthäufigste Todesursache weltweit, unmittelbar nach dem Tod durch Herzinfarkt und Schlaganfall (WHO. Global Health Estimates 2016.). Die jährlichen, durch COPD verursachten Kosten für das Gesundheitssystem belaufen sich in Europa auf circa 48,8 Billionen Euro (European respiratory society, 2018).

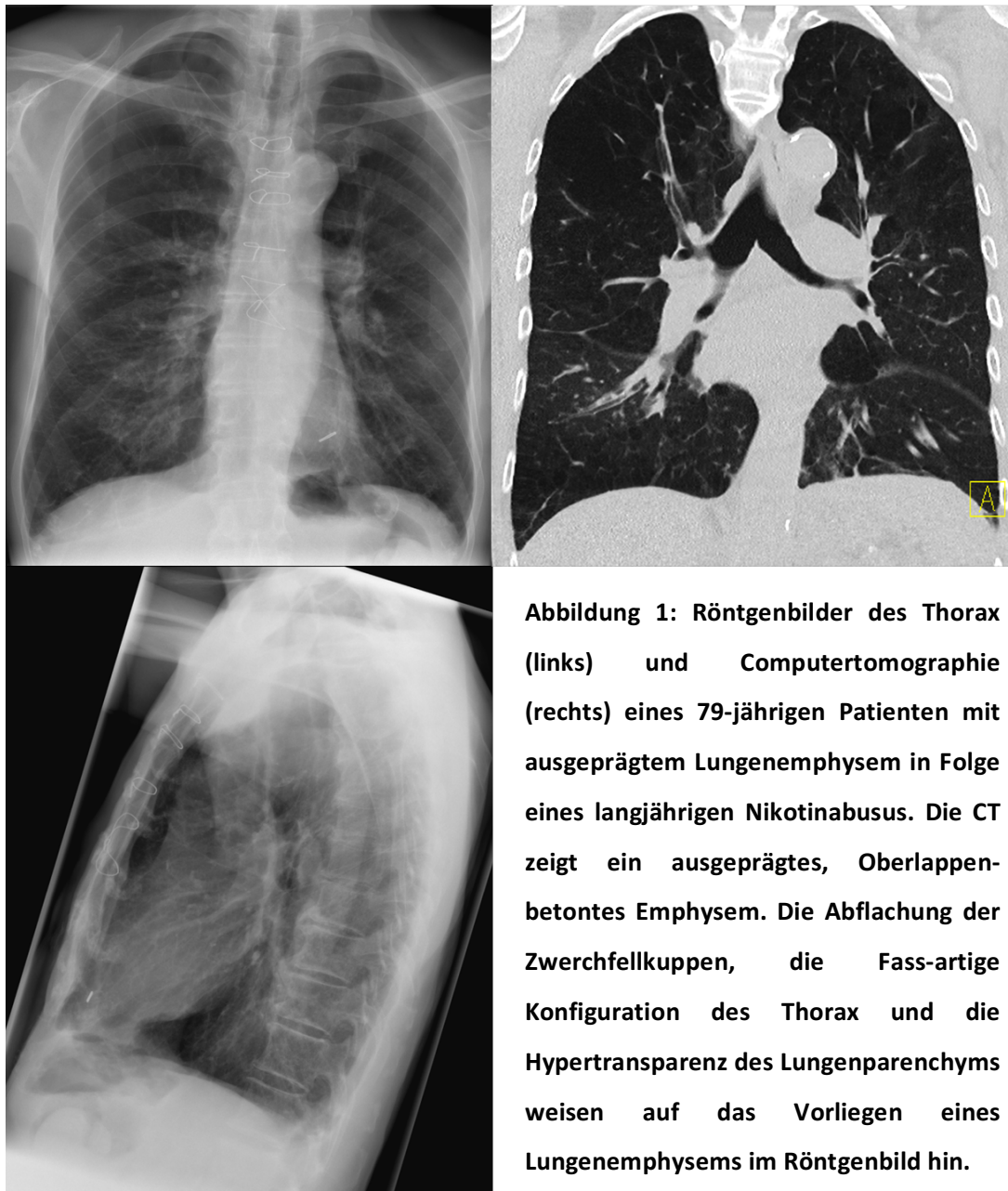
Das Vorliegen eines Lungenemphysems zeichnet sich durch die irreversible Destruktion der alveolären Mikrostruktur mit konsekutiver Erweiterung der distalen Luftwege aus (Cosio Piqueras MG et al., 2001). Durch die Zerstörung der Alveolen und damit der Funktionseinheit der Lunge, die für den Sauerstoffaustausch zwischen Atemluft und zirkulierendem Blut zuständig ist, sinkt der Sauerstoffgehalt im Blut. Betroffene Patienten leiden neben Husten und Auswurf an chronischer Atemnot (Dyspnoe). Diese tritt zunächst bei Belastung auf. Im späteren Stadium der Erkrankung kommt es zur Ruhedyspnoe (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, 2014). Da die Schädigung des Lungenparenchyms irreversibel ist, kann die COPD zwar nicht geheilt, ein Fortschreiten der Erkrankung mittels geeigneter therapeutischer Maßnahmen jedoch verzögert und die

Häufigkeit des Auftretens von Exazerbationen gesenkt werden. Grundlage der Therapie ist die Raucherentwöhnung. Weitere Maßnahmen, wie die bedarfsorientierte Gabe von inhalativen Bronchodilatoren und Glukokortikoiden, in fortgeschrittenen Fällen Sauerstofflangzeittherapien, sowie präventive Maßnahmen wie jährliche Influenza-Impfungen, sind wichtige Säulen der konservativen Therapie (Wedzicha JA et al., 2014). Interventionelle sowie operative therapeutische Maßnahmen sind schweren Erkrankungsfällen vorbehalten und bestehen aus Lungenvolumenreduktionen, Bullektomien und Lungentransplantationen (Marchetti N et al., 2015).

### 3.1.2 Diagnostische Limitationen

Neben der häufig vorliegenden Raucheranamnese sowie typischen Befunden in der körperlichen Untersuchung dient insbesondere die Durchführung von Lungenfunktionstests (Spirometrie) der klinischen Diagnostik, und ist gleichzeitig Bestandteil der Schweregradeinteilung der COPD. Die Einteilung der COPD-Patienten in die spirometrischen Schweregrade GOLD 1 bis 4 (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) erfolgt anhand des FEV1-Wertes (Einsekundenvolumen). Seit 2017 existiert zudem die Einteilung der COPD-Patienten in die Gruppen A bis D, welche die Anzahl von Exazerbationen und das Ausmaß der Symptome, also verstärkt die klinische Präsentation der Patienten, berücksichtigt (Marçôa R et al., 2018). Die klinische Diagnose der COPD und damit des Lungenemphysems erfolgt meist zu einem Zeitpunkt, zu dem die Patienten bereits symptomatisch sind. Die Erkrankung befindet sich dann in der Regel in einem fortgeschrittenen Stadium. In der bildgebenden Diagnostik des Lungenemphysems steht als weit verbreitetes, kostensparendes und verhältnismäßig strahlungsarmes Instrument das Röntgenbild des Thorax zu Verfügung. Mittels konventioneller Lungenbildgebung lassen sich indirekte morphologische Veränderungen des Lungenemphysems, die sich in einem vergrößerten pulmonalen Volumen widerspiegeln, abbilden. Hierzu zählen beispielsweise abgeflachte Zwerchfelle, ein vergrößerter anteroposteriorer Thoraxdurchmesser und erweiterte Zwischenrippenräume (**Abbildung 1**). Eine weitere Folge der COPD, nämlich die Entwicklung eines pulmonalarteriellen Hypertonus, lässt sich anhand verbreiteter Pulmonalis-Hauptstämme abbilden. Die projektionsradiographische Lungenbildgebung eignet sich also hervorragend für die Detektion des fortgeschrittenen Lungenemphysems (Miniati M et al., 2008), ist allerdings nur mäßig sensitiv bei Patienten, die an einer leichten oder mittelgradigen Ausprägung der Erkrankung leiden (Washko GR, 2010). Im Gegensatz hierzu macht die Computertomographie die emphysematösen Veränderungen in der Lunge

als Areale verminderter Dichte (gemessen in Hounsfield Units) direkt sichtbar (**Abbildung 1**).



**Abbildung 1: Röntgenbilder des Thorax (links) und Computertomographie (rechts) eines 79-jährigen Patienten mit ausgeprägtem Lungenemphysem in Folge eines langjährigen Nikotinabusus. Die CT zeigt ein ausgeprägtes, Oberlappenbetontes Emphysem. Die Abflachung der Zwerchfellkuppen, die Fass-artige Konfiguration des Thorax und die Hypertransparenz des Lungenparenchyms weisen auf das Vorliegen eines Lungenemphysems im Röntgenbild hin.**

Ein weiterer Vorteil im Vergleich zur konventionelle Bildgebung besteht darin, dass sowohl die Art (zentrilobulär, panlobulär, paraseptal), die Ausprägung als auch die lokale Verteilung des Emphysems computertomographische abgebildet werden können – letzteres ist insbesondere zur Planung einer Volumenreduktions-Operation der Lunge essentiell. (Goldin JG, 2009). Limitiert wird die breitflächige Anwendung der CT für

Screening- und Follow-Up-Untersuchungen durch die hiermit assoziierte Strahlenbelastung der Patienten.

## **3.2 Lungenfibrose**

### **3.2.1 Krankheitsbild**

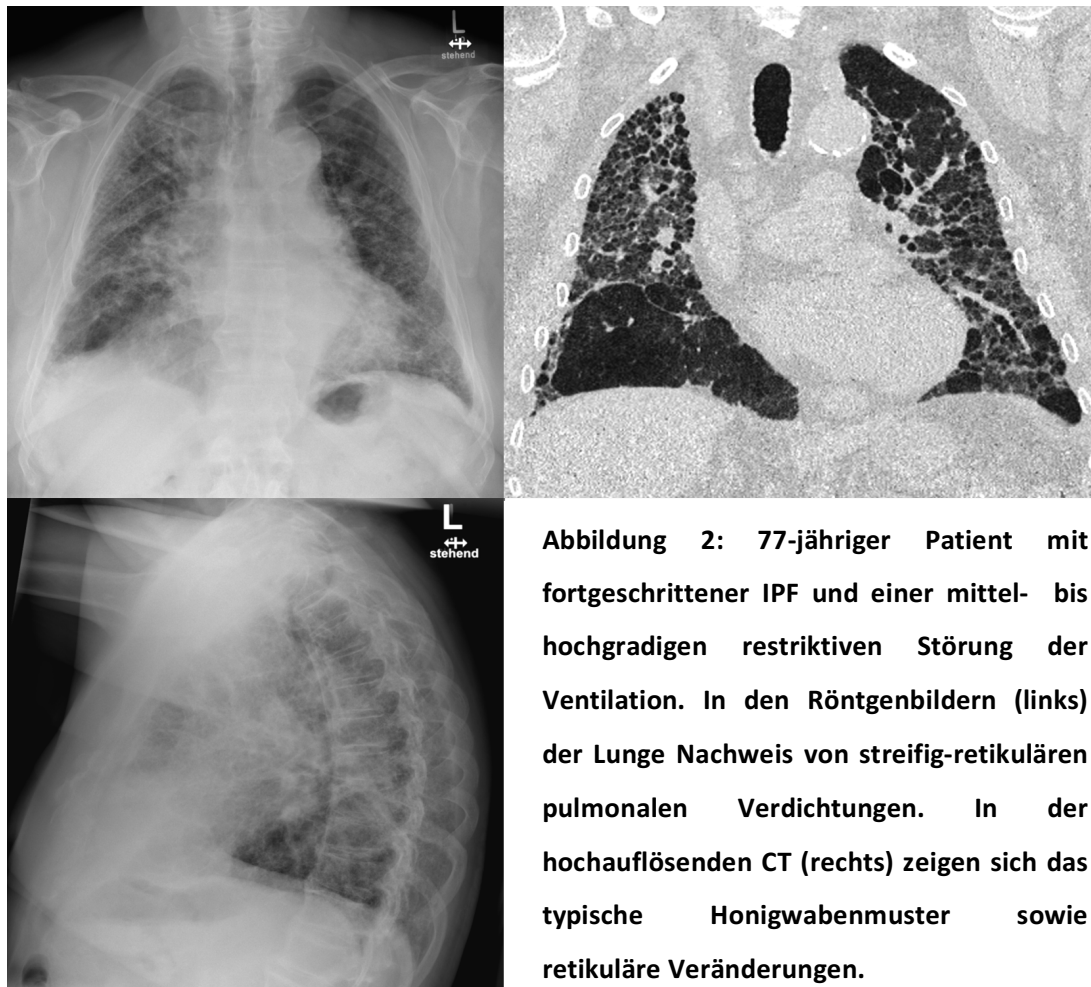
Diffuse Lungenparenchymerkrankungen (DPLDs) stellen eine heterogene Gruppe von pulmonalen Pathologien dar, an denen in der westlichen Welt circa 750.000 Patienten leiden. Gemeinsam sind diesen Erkrankungen chronische Entzündungsvorgänge des Interstitiums, die zu dessen bindegewebigem Umbau unter Beteiligung der alveolären Membranen führen. Pulmonale Manifestationen von Systemerkrankungen, wie Kollagenosen oder Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis, können ebenso ursächlich für das Vorliegen einer DPLD sein, wie umwelt- und berufsbedingte Einflüsse sowie medikamententoxische Reaktionen. Finden sich keine eruierbaren Ursachen für die Entwicklung einer pulmonalen Fibrose wird die Diagnose einer idiopathischen interstitiellen Pneumonie (IIP) gestellt (Sverzellati N et al., 2015). Hierbei sei insbesondere auf die häufigste IIP, die idiopathische pulmonale Fibrose (IPF), verwiesen. Die IPF weist auf Grund ihres progredienten und therapierefraktären Verlaufs eine schlechte Prognose mit einer 5-Jahresüberlebensrate von nur 20-40% auf (Raghu G et al., 2011). In Europa sind circa 150.000 Menschen an IPF erkrankt. Im fortgeschrittenen Stadium besteht die einzige Therapie dieser Erkrankung in einer Lungentransplantation. Seit kurzem stehen mit Pirfenidon und Nintedanib jedoch zwei Substanzen zur Verfügung, die das Fortschreiten einer mild bis mittelgradig ausgeprägten IPF signifikant verlangsamen können (Caminati A et al., 2017). Die frühzeitige Diagnose der IPF gewinnt damit zunehmend an Bedeutung.

### 3.2.2 Diagnostische Limitationen

Für die korrekte Diagnose fibrotischer Lungenerkrankungen ist die enge interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Pulmonologen, Radiologen und Pathologen essentiell. (Salvatore M et al., 2018; Chung JH et al., 2018) Die klinische Diagnose der IPF und der übrigen IIPs ist auf Grund der wenig spezifischen Symptome, wie beispielsweise Atemnot und Husten, mitunter schwierig. Lungenfunktionstest zeigen eine restriktive Ventilationsstörung und häufig eine erniedrigte Diffusionskapazität. Die Anwendbarkeit der Lungenfunktionstests für eine frühzeitige Diagnose oder die Einschätzung des Schweregrads der DPLDs bleibt laut Literatur umstritten (Martinez FJ et al., 2006). In der Bildgebung der fibrotische Lungenerkrankungen ist die High-Resolution Computertomographie (HRCT) der Referenzstandard. Lungengerüstveränderungen wie sie im Rahmen fibrotischer Umbauprozesse vorkommen können, zum Beispiel Milchglastrübungen, Honigwabemuster, Traktionsbronchiektasien oder retikuläre Verdichtungen, lassen sich eindeutig identifizieren (**Abbildung 2**). Im Falle der IPF kann auf Grund der CT-Bildgebung zum Teil sogar auf die in der Regel nötige Lungenbiopsie verzichtet werden, sollte ihr das klassische UIP (usual interstitial pneumonia) - Muster zu Grunde liegen (Jacob J et al., 2015). Die CT spielt zudem eine wichtige Rolle beim Monitoring der Erkrankung, bei akuten Exazerbationen sowie zur Planung von Lungenbiopsien (Raghu G et al., 2011). Die vergleichsweise hohe Strahlenbelastung der HRCT insbesondere bei häufigen follow-up Untersuchungen limitiert jedoch den Einsatz dieser Technik. Zudem ist die in der Regel primär und häufigste zum Einsatz kommende Bildgebungsmodalität der Lunge nach wie vor das konventionelle Röntgenbild (Bundesamt für Strahlenschutz, 2017), was damit ein gutes Tool für ein eventuelles Screening darstellen



könnte. Fibrotische Lungengerüstveränderungen führen zu einer retikulären Zeichnungsvermehrung im Röntgenbild (**Abbildung 2**).



**Abbildung 2: 77-jähriger Patient mit fortgeschrittener IPF und einer mittel- bis hochgradigen restriktiven Störung der Ventilation. In den Röntgenbildern (links) der Lunge Nachweis von streifig-retikulären pulmonalen Verdichtungen. In der hochauflösenden CT (rechts) zeigen sich das typische Honigwabenmuster sowie retikuläre Veränderungen.**

Diese Veränderungen sind jedoch erst in fortgeschrittenen Stadien der Erkrankung sichtbar. Für die Diagnose einer frühen Form der Lungenfibrose sind konventionelle Röntgenbilder also nicht geeignet (Chiodera P, 1997).

### **3.3 Pneumothorax**

#### **3.3.1 Krankheitsbild**

Ein Pneumothorax ist definiert als das Eintreten von Luft in den Pleuraspalt (Choi WI, 2014). Der Pleuraspalt ist ein schmaler Raum zwischen Pleura viszeralis und Pleura parietalis, der physiologischer Weise mit 5-10 ml seröser Flüssigkeit ausgefüllt ist. In der Pleurahöhle herrscht ein Unterdruck, der bewirkt, dass Pleura viszeralis und Pleura parietalis aneinanderhaften. Tritt Luft in den Pleuraspalt ein, so lösen sich die beiden Pleurablätter auf Grund des fehlenden Unterdrucks voneinander und die Lunge kann kollabieren. Die Gründe für das Entstehen eines Pneumothorax sind mannigfaltig. Meist ist er eine Komplikation ärztlicher Eingriffe (sogenannter iatrogener Pneumothorax), zum Beispiel im Rahmen der akzidentiellen Punktion der Pleura während der Anlage eines Zentralvenenkatheters, Herzschrittmachers oder Portsystems (Sharma A et al., 2008). Aber auch Thoraxtraumen in Folge von Schuss- und Stichverletzungen oder Verkehrsunfällen können Gründe für das Entstehen eines Pneumothorax sein. Das Auftreten eines spontanen Pneumothorax ist entweder die Folge einer prädisponierenden Erkrankung, zum Beispiel bei Lungenemphysem (sekundärer Pneumothorax), oder der spontane Pneumothorax entsteht ohne zugrundeliegende Erkrankung (primärer Pneumothorax) (Noppen M et al., 2002). Jeder Pneumothorax kann sich zu einem potentiell lebensbedrohlichen Spannungspneumothorax entwickeln. Durch einen Ventilmechanismus tritt bei diesem Krankheitsbild während jeder Inspiration Luft in den Pleuraspalt ein, die allerdings bei Expiration nicht wieder abgeatmet werden kann. Folglich füllt sich der Pleuraraum zunehmend mit Luft. Die Lunge der betroffenen Seite kollabiert vollständig. Zudem führt der erhöhte Druck in der betroffenen Thoraxhälfte zu einem Shift der Mediastinalstrukturen in Richtung der gesunden Seite, mit konsekutiv zunehmender Einengung der zum Herzen führenden großen Venen, was durch den verminderten

Blutfluss im Herzen letztlich zum Tode führen kann (Roberts DJ et al., 2015). Dies macht deutlich, wie wichtig eine frühe und korrekte Diagnose eines Pneumothorax ist. Nur so können die Patienten zeitnah der richtigen Therapie zugeführt werden, welche in der Anlage einer Thoraxdrainage besteht (Haynes D et al., 2010).

### 3.3.2 Diagnostische Limitationen

Da die klinischen Symptome eines Patienten mit Pneumothorax (zum Beispiel Atemnot, thorakale Schmerzen, Tachykardie, Hypotension) unspezifisch sind, ist die Bildgebung essentiell. Die CT ist zwar der Referenzstandard für die Diagnose des Pneumothorax, auf Grund der limitierten Verfügbarkeit dieser Technik, den vergleichsweise hohen Kosten und insbesondere der hiermit verbundenen Strahlenbelastung, ist das Röntgenbild des Thorax nach wie vor die am häufigsten angeforderte Untersuchung bei Verdacht auf einen Pneumothorax. Allerdings wird eine nicht unerhebliche Zahl von Pneumothoraces im konventionellen Röntgenbild übersehen (Brar MS et al., 2010). Grund hierfür ist der geringe Dichteunterschied zwischen luftgefülltem Lungengewebe und Luft im Pleuraraum (**Abbildung 3**). Studien konnten zeigen, dass bis zu 75% der Pneumothoraces übersehen werden, wenn die Röntgenbilder entweder von unerfahrenen Radiologen oder von Klinikern anderer Fachdisziplinen interpretiert werden (Aitchison F et al., 1993; Ball CG et al., 2009). Eine besondere Schwierigkeit stellen Röntgenaufnahmen von Patienten auf Intensivstationen dar: Da die Patienten liegen, sammelt sich die Luft nicht wie bei der Stehendaufnahme in den apikalen Anteilen des Thorax, wo dann eine dünne, scharfe Linie den Rand der belüfteten Lunge anzeigt. Vielmehr akkumuliert die Luft in den ventralen Anteilen des Pleuraraums, die pleurale Dehiszenzlinie ist somit zum Teil nicht sichtbar (Gordon R, et al., 1980). Zum anderen führen überlagernde Strukturen, wie zum Beispiel die Rippen oder, insbesondere bei Patienten auf Intensivstation, extra- und intrakorporale Fremdkörper wie EKG- oder Herzschrittmacher-Kabel, zu Schwierigkeiten bei der korrekten Diagnose eines Pneumothorax (Brown SE et al., 2012). Konsekutiv beträgt die Sensitivität für die Detektion eines Pneumothorax beim liegenden Patienten nur circa 50% (Omar HR et al., 2010). Sicher diagnostizieren lässt sich ein Pneumothorax mittels Computertomographie. Auch das Ausmaß der pleuralen Luftansammlung ist mit Hilfe der

Schnittbildgebung exakt darstellbar (**Abbildung 3**). In der klinischen Praxis ist die Anwendung der CT auf Grund vergleichsweise hoher Strahlenbelastung und Kosten, sowie auf Grund der Schwierigkeiten, die mit der Bildgebung von bettlägerigen Patienten verbunden sind, limitiert (Rankine J et al., 2000).



**Abbildung 3: Röntgenbild (links) und CT (rechts) einer 76-jährigen Patientin mit iatrogenem Pneumothorax links nach Anlage eines Herzschrittmachers. Während der Pneumothorax im CT klar zu erkennen ist, stellt die röntgenologische Diagnose eines Pneumothorax (Pfeil) auf Grund der geringen Dichte des Lungenparenchyms sowie überlagernder Strukturen eine größere Herausforderung dar.**

### **3.4 Zusammenfassung und Motivation**

Mittels konventioneller Röntgenuntersuchungen des Thorax lassen sich Lungengerüstveränderungen, welche beispielsweise durch das Vorliegen eines Lungenemphysems oder einer Lungenfibrose hervorgerufen werden, meist erst im fortgeschrittenen Stadium diagnostizieren (Washko GR, 2010, Devaraj A, 2014). Oftmals besteht in diesem Fall die einzige mögliche Therapie in einer Lungentransplantation (George TJ et al., 2011). Auch akute thorakale Krankheitsereignisse, wie zum Beispiel der Pneumothorax, bei dem sich Luft zwischen den Pleurablättern sammelt, was zu einem Kollaps der betroffenen Lunge führen kann, sind auf Grund des geringen Dichteunterschieds zwischen Lungengewebe und Luft im Röntgenbild zum Teil nur schwer zu detektieren (de Moya MA et al., 2007). Die Computertomographie der Lunge bietet eine höhere Sensitivität in der Diagnostik vieler Lungenerkrankungen. Auf Grund der vergleichsweise hohen Strahlendosis wird die CT in der Routine jedoch zumeist seltener eingesetzt als die Röntgenuntersuchung des Thorax (Sodickson A et al., 2009). Ein Röntgenverfahren, das eine im Vergleich zur konventionellen Radiographie deutlich verbesserte Sensitivität in der Detektion von Lungenerkrankungen aufweist, dabei aber mit vergleichsweise geringer Strahlenexposition verbunden ist, wäre wünschenswert.

## **4 Lungenbildung mittels Dunkelfeld-Radiographie**

### **4.1 Physikalische Grundlagen**

Beim Durchtritt elektromagnetischer Wellen durch ein Objekt erfährt der Röntgenstrahl im Wesentlichen drei physikalische Einflüsse:

a) Die Photonen werden beim Durchtritt durch die Materie abgeschwächt/absorbiert. Hierdurch entsteht der Bildkontrast im konventionellen Absorptions-/ Transmissionsbild. Der unterschiedliche Kontrast im Röntgenbild beruht auf der Tatsache, dass Gewebe verschiedener Kernladungszahl  $Z$  und verschiedener Dichte Photonen unterschiedlich stark absorbieren: Sehr dichtes Gewebe, wie zum Beispiel Calcium, das in Knochen enthalten ist, absorbiert Röntgenstrahlung wesentlich stärker als weniger kompaktes Gewebe, wie zum Beispiel die Lunge.

b) Beim Durchtritt durch unterschiedliche Gewebe kommt es zu einer Brechung der elektromagnetischen Wellen, die durch eine Phasenverschiebung verursacht wird. Dadurch können Weichteilgewebe, welche eine ähnliche Absorption von Röntgenstrahlen verursachen, wesentlich sensitiver/kontrastreicher abgebildet werden als in der Transmissionsbildgebung (Lewis RA, 2004). Diese Art der Röntgenbildgebung wird als Phasenkontrast-Bildgebung bezeichnet.

c) Die Röntgenstrahlen werden beim Passieren von Luft-Gewebe-Grenzflächen (im Falle der Lunge, den Alveolen entsprechend) an diesen gestreut. Die so entstandene Kleinwinkelstreuung erlaubt eine kontrastreiche Abbildung der Lunge im Dunkelfeldbild (Bech M et al., 2013).

Um die Phasenkontrast- und Dunkelfeldbildgebung auch mit konventionellen Röntgenröhren, sog. low brilliance Röntgenquellen, zu ermöglichen, bedarf es eines besonderen Aufbaus der Röntgenanlage (Pfeiffer F et al., 2008): Der Röntgenstrahl wird auf

seinem Weg von der Röntgenquelle zum Detektor durch drei Gitter geleitet: das Quellgitter (englisch: source grating, G0), das Phasengitter (englisch: phase grating, G1) und das Analysegitter (englisch: analyzer grating, G2). Die zunächst inkohärente Strahlung der im System verbauten konventionellen Röntgenröhre wird durch das Quellgitter in partiell kohärente Strahlung umgewandelt, mittels der Phasenkontrastbildung erst möglich wird. Diese partiell kohärente Strahlung durchdringt nun das Objekt und trifft auf das Phasengitter. Das Phasengitter erzeugt ein Interferenzmuster. Durch den Vergleich der Interferenzmuster mit und ohne Objekt im Strahlengang kann z.B. mittels Fourier-Transformation die Phasen- und Dunkelfeldinformation abgeleitet werden. Das Analysegitter ist nötig, da konventionelle Detektoren das Interferenzmuster nicht auflösen können; damit wird das G2 Gitter dazu genutzt, das Interferenzmuster systematisch abzurastern und so die Information über kleinste Veränderungen des Musters festzustellen (Pfeiffer F et al., 2006).



## 4.2 Anwendung am Kleintiermodell: Lungenemphysem, Lungenfibrose und Pneumothorax

Auf Grund ihrer alveolären Mikrostruktur mit zahlreichen Luft-Gewebe-Grenzflächen und der hieraus resultierenden starken Streuung von Röntgenstrahlen, ist die Lunge ein überaus



**Abbildung 4: Maus (Pneumothorax-Studie) im Kleintierscanner (mit freundlicher Genehmigung von A. Yaroshenko).**

geeignetes Organ für die Dunkelfeldbildgebung.

Gesundes Lungengewebe weist ein intensives Dunkelfeldsignal auf. Störungen in der Mikroarchitektur des Organs, wie sie zum Beispiel beim Emphysem oder der Fibrose vorliegen, sollten also zu einer Abschwächung des Dunkelfeldsignals führen. Eines der Ziele dieses Habilitationsprojekt besteht darin, festzustellen, ob und in welcher Weise sich das Dunkelfeldsignal bei verschiedenen Lungenerkrankungen verändert, und inwieweit dies, verglichen mit der konventionellen

Transmissions-Bildgebung, eine verbesserte Diagnostik der pulmonalen Pathologien zulässt.

Hierzu wurden nach erfolgter Genehmigung aller gestellter Tierversuchsanträge mehrere

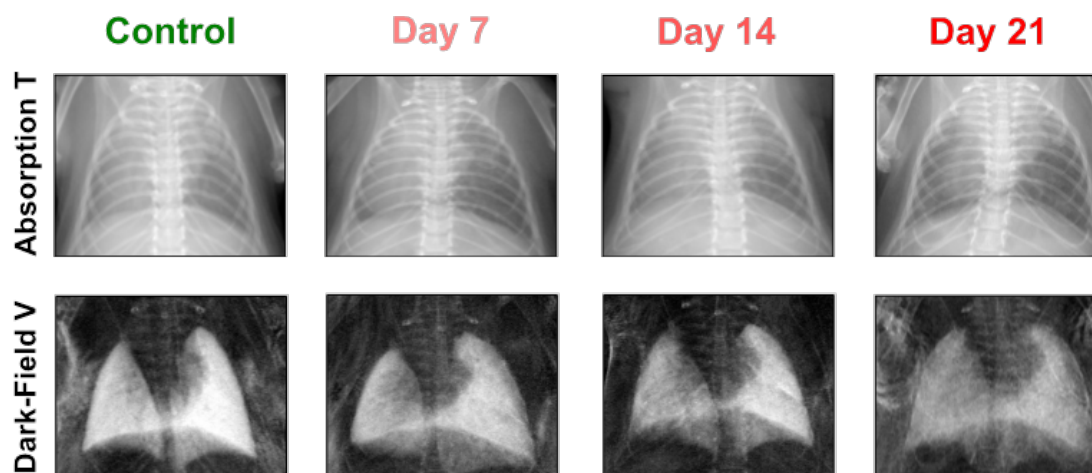
Experimente am Kleintiermodell (C57BL/6 Mäuse) durchgeführt. Die Transmissions- und Dunkelfeld-Aufnahmen wurden mit einem Prototypscanner für Kleintierbildgebung (Bruker microCT, Kontich, Belgium) akquiriert (Tapfer A et al., 2012). Im Falle der Emphysem- und Fibrose-Experimente wurden lebende Mäuse anästhesiert und in Rückenlage auf ein Bett im Scanner gelegt (**Abbildung 4**). Die Mäuse atmeten während der Bildgebung frei.

Atemfrequenz und Körpertemperatur wurden während des Scanvorgangs überwacht. Um ein Auskühlen der Tiere zu verhindern, wurde das Gerät beheizt. Die Bildgebung der Mäuse für die Pneumothorax-Studie erfolgte an toten Tieren, sodass ein Monitoring der Tiere nicht nötig war. Die im Scanner verbaute rotierende Gantry besteht aus einer konventionellen Röntgenröhre (RTW, MCBM 65B-50 W, Brennfleckgröße ca. 50µm), einem Flachbilddetektor (Hamamatsu, C9312SK-06, GOS Szintillator, Pixelgröße 50 µm) sowie einem Talbot-Lau Interferometer. Dieses besteht aus drei Gittern: dem Quellgitter (G0) aus Gold (Periode 10 µm; Höhe 35 µm), dem Phasengitter (G1) aus Nickel (Periode 3.24 µm; Höhe 4 µm; Abstand zum Quellgitter 30 cm) und dem Analysegitter (G2) aus Gold (Periode 4.8 µm; Höhe 45 µm; Abstand zum Quellgitter 45 cm). Die Röntgenröhre wurde mit einer Röhrenspannung von 35 kV(p) und einer Röhrenleistung von 20W betrieben. Die räumliche Auflösung der Bilder beträgt 57 µm (10% modulation transfer function). Das field of view (FOV) ist rund und hat einen Durchmesser von 5 cm. Die während eines Scanvorgangs applizierte Strahlendosis beträgt ca. 1.5 mGy. Die Prozessierung der Bilddaten erfolgte mittels eines hausintern geschriebenen MATLAB-Codes (Mathworks Inc, MA).

#### 4.2.1 Lungenemphysem

Nachdem sowohl in *ex vivo* als auch in *in vivo* Studien gezeigt werden konnte, dass die Dunkelfeldbildgebung der Transmissionsbildgebung in der Darstellbarkeit des schweren Lungenemphysems überlegen ist (Meinel et al., 2014; Yaroshenko et al., 2013), sollte nun die Frage beantwortet werden, ob mittels Dunkelfeldradiographie auch die Diagnose früherer, also leichter und mittelschwerer Stadien des Lungenemphysems möglich ist. Zur Induktion des Lungenemphysems wurde acht bis zehn Wochen alten, weiblichen Mäusen ( $n = 30$ ) intratracheal Elastase (80 U / kg Körpergewicht) verabreicht – ein etabliertes Tiermodell für das pulmonale Emphysem. Mäusen in der Kontrollgruppe ( $n = 11$ ) wurde 80  $\mu$ l sterile PBS (phosphate-buffered saline) intratracheal verabreicht. Um das Vorliegen verschiedener Emphysem-Stadien zu gewährleisten, wurden die Mäuse in drei Gruppen (zu jeweils  $n = 10$  Tiere) unterteilt, welche entweder sieben, 14 oder 21 Tage nach Elastase-Instillation gescannt wurden. Die Betäubung der Tiere für die Elastase-/PBS-Gabe, die Bildakquisition sowie die Lungenfunktionstests erfolgte mittels intraperitonealer Injektion von Fentanyl (50  $\mu$ g/kg Körpergewicht), Midazolam (5  $\mu$ g/kg Körpergewicht) und Medetomidin (500  $\mu$ g/kg Körpergewicht). Unmittelbar im Anschluss an die Bildgebung wurden die Tiere getötet und ihre Lungen zur weiteren histologischen Aufarbeitung (mean-cord-length (MCL)-Analyse als histologisches Maß für die Emphysemausprägung und gleichzeitig Referenzstandard der Studie) entnommen. Im Falle eines Lungenemphysems zeigten sich in der Transmissionsbildgebung eine zunehmende Transparenz des Lungengewebes sowie ein erhöhter thorakaler Durchmesser (aufgrund der Überblähung der Lunge). Die Zerstörung der alveolären Mikrostruktur im Rahmen des Emphysems führte zu einer Abschwächung des Dunkelfeldsignals (**Abbildung 5**). Die Ergebnisse der Studie zeigten eine starke Korrelation zwischen Dunkelfeldsignal und Histologie ( $r = 0,80$ ). Die Korrelation zwischen Transmissionssignal und Histologie war hingegen nur schwach ( $r =$

0,37). Die mittels einer Readerstudie errechnete diagnostische Genauigkeit für die Detektion von milden und mäßigen Formen des Emphysems zeigte Limitationen in der Transmissionsbildgebung (Sensitivität 60%, Spezifität 90,9%). Die Detektion des schweren Lungenemphysems mittels Transmissionsbildgebung ergab ein etwas besseres Ergebnis (Sensitivität 70%, Spezifität 90,9%). Im Falle der Dunkelfeldbildgebung zeigte sich eine im Vergleich signifikant verbesserte diagnostische Genauigkeit mit einer Sensitivität von 100% (Spezifität 81,8%) für die Detektion von mildem Emphysem und einer Sensitivität und Spezifität von 100% für die Diagnose mäßiger und schwerer Formen der Erkrankung. Konsekutiv zeigte sich eine sehr gute Interrater-Reliabilität (Cohen  $\kappa$  Koeffizient  $> 0,8$ ) in der Dunkelfeld-basierten Stadien-Einteilung des Lungenemphysems verglichen mit einer mangelhaften Interrater-Reliabilität für die Transmissionsbildgebung (Cohen  $\kappa$  Koeffizient  $> 0,2$ ). Die Ergebnisse der Studie legen offen, dass zumindest am Mausmodell eine Früherkennung sowie ein zuverlässiges Emphysem-Grading mittels Dunkelfeld-Röntgenbildgebung möglich ist (Hellbach K et al., 2015).

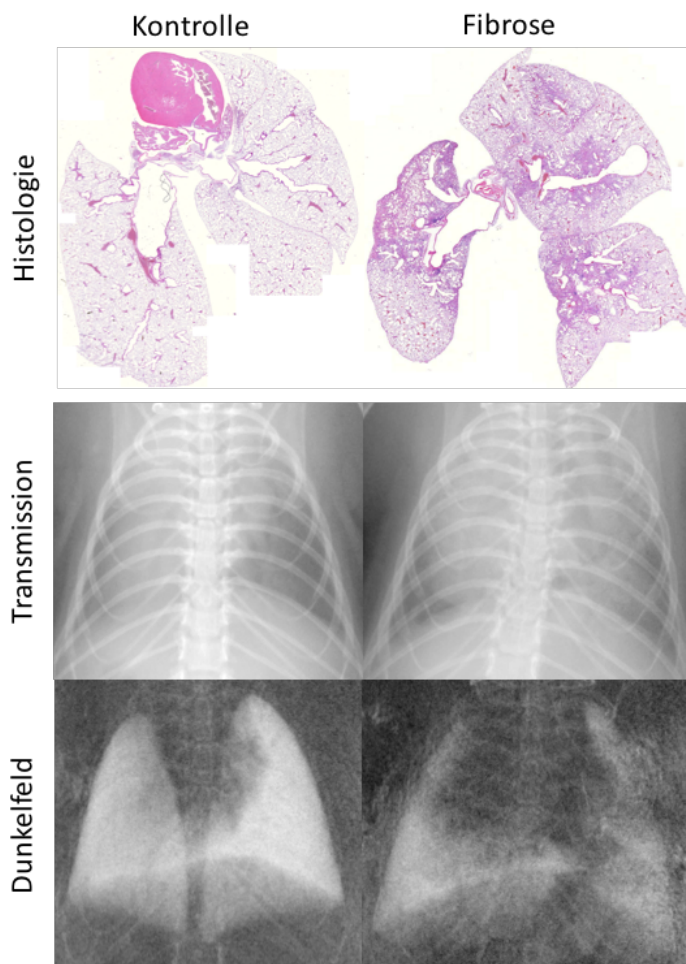


**Abbildung 5: Fortschreitendes Lungenemphysem *in vivo* (von links nach rechts) im Transmissionsbild (Absorption T; obere Reihe) und im Dunkelfeldbild (Dark-Field V; untere Reihe). An Tag 21 ist das ausgeprägte Lungenemphysem aufgrund der vermehrten Transparenz der Lunge und des zunehmenden Thoraxdurchmessers auch im Transmissionsbild erkennbar. Frühere Stadien des Lungenemphysems (Tag 7 und Tag 14)**

sind hingegen nicht oder nur sehr schwer zu diagnostizieren. Im Gegensatz hierzu zeigt sich bereits an Tag 7 ein insbesondere die Lungenperipherie betreffender Abfall des Dunkelfeld-Signals als Ausdruck des beginnenden Lungenemphysems, welcher sich im Verlauf zu den zentralen Anteilen der Lunge ausbreitet und im schweren Stadium das Dunkelfeld-radiographische Bild einer destruierten Lunge zeigt (aus Hellbach K et al., 2015).

#### 4.2.2 Lungenfibrose

Zur Induktion der Lungenfibrose erfolgte die Gabe von Bleomycin (3 U/kg Körpergewicht) in die Trachea von acht bis zehn Wochen alten, weiblichen C57BL/6 N Mäusen (n = 23). Die



**Abbildung 6: Histologie (obere Reihe), *in vivo* Transmissionsbild (mittlere Reihe), Dunkelfeldbild (untere Reihe) einer gesunden (links) und kranken (rechts) murinen Lunge. Die fortgeschrittene Lungenfibrose bewirkt eine (in diesem Beispiel) einseitige Transparenzminderung in der Transmissionsbildgebung und eine fleckig imponierende Signalmindern im Dunkelfeld-Bild (aus Hellbach K et al., 2017).**

Kontrolltiere (n = 12) erhielten eine intratracheale Gabe von 80 µl PBS. 14 Tage nach der Gabe von Bleomycin oder PBS wurden die Tiere gescannt. Hierzu wurden die lebenden, frei atmenden Tiere anästhesiert (intraperitoneale Injektion von Fentanyl (50 µg/kg Körpergewicht), Midazolam (5 mg/kg Körpergewicht) und Medetomidine (500 µg/kg Körpergewicht)). Im Anschluss wurden die Tiere getötet und ihr Lungen für die histologische Aufbereitung asserviert. Die

Histologie diente auch dieser Studie als Referenzstandard.

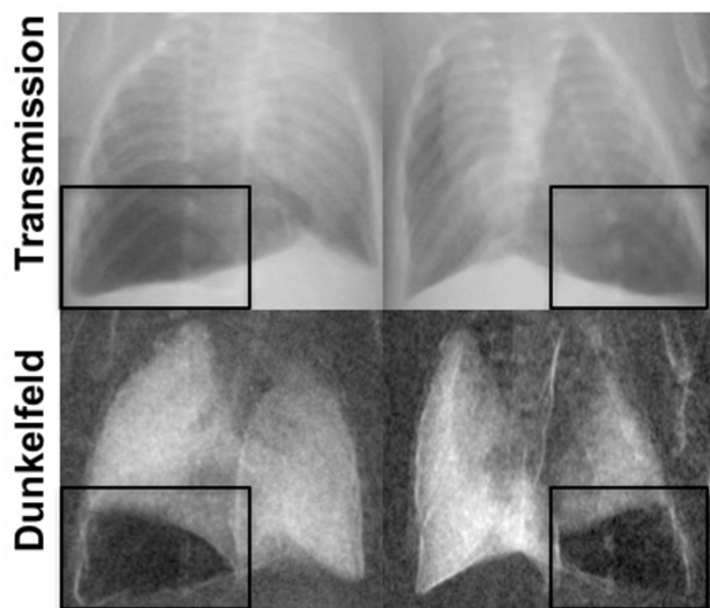
In einer bereits 2015 durchgeführten proof-of-principle Studie konnte gezeigt werden, dass auch geringfügige fibrotische

Veränderungen des Lungenparenchyms zu einem deutlichen Signalabfall im Dunkelfeldbild

führen (Yaroshenko A et al., 2015), die Signalveränderungen in den korrespondierenden Transmissionsbildern jedoch deutlich geringer ausfallen (**Abbildung 6**). Um die Wertigkeit der Dunkelfeld- und Transmissionsbildgebung für die Diagnose fibrotischer Lungengerüstveränderungen zu überprüfen, wurde eine Reader-Studie durchgeführt. Zwei geblindete, unabhängige und erfahrene Radiologen analysierten hierzu unabhängig voneinander in drei, jeweils durch ein Intervall von zwei Wochen getrennten, Reading-Sessions alle Bilder bezüglich des Vorliegens fibrotischer Lungengerüstveränderungen: begonnen wurde mit der Analyse der Transmissions-Daten, gefolgt von der Analyse der Dunkelfeldbilder. In der letzten Session wurden die Transmissions- zusammen mit den Dunkelfelddaten analysiert. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die diagnostische Genauigkeit in der Detektion der Lungenfibrose durch die Analyse der Dunkelfeld- im Vergleich zu den Transmissions-Datensätzen signifikant verbessert wurde (Dunkelfeld: Sensitivität 96,9%, Spezifität 100%; Transmission: Sensitivität 84,4%, Spezifität 95,8%). Die beste diagnostische Performance erlangten die Reader bei der kombinierten Analyse von Dunkelfeld- und Transmissionsbildern (Sensitivität 100%, Spezifität 100%). Auch die in der Studie abgefragt diagnostische Sicherheit der Reader stieg deutlich durch die Analyse der Dunkelfeld-Datensätze. Am Mausmodell ließ sich mittels dieser Studie zeigen, dass die Zuhilfenahme von Dunkelfeld-Bildern die Detektion fibrotischer Lungengerüstveränderungen signifikant verbessert (Hellbach K et al., 2017).

#### 4.2.3 Pneumothorax

Basierend auf der Annahme, dass Lungengewebe ein starkes Dunkelfeldsignal generiert, der luftgefüllte Pleuraraum jedoch nicht streut, wurde die Hypothese einer erleichterten Diagnose von Pneumothoraces mittels Dunkelfeldbildgebung aufgestellt. Die Entstehung der Pneumothoraces in dieser Studie war ein Nebeneffekt der künstlichen Beatmung sieben Tage alter C57Bl/6N Mäuse zur Induktion einer bronchopulmonalen Dysplasie (Yaroshenko et al., 2016). Von den insgesamt 46 Studientieren entwickelten acht Mäuse



**Abbildung 7: Einseitige Pneumothoraces (schwarzer Kasten) ex vivo in der Transmission (obere Reihe) und im Dunkelfeld (untere Reihe). Während der Pneumothorax im Dunkelfeld eindeutig als signalfreies Areal zur Darstellung kommt, ist die Detektion des Pneumothorax in der Transmission auf Grund der geringen Dichte der luftgefüllten Lunge sowie durch überlagernde Strukturen der Thoraxwand deutlich erschwert (aus Hellbach K et al., 2015).**

einen Pneumothorax, zwei hiervon einen bilateralen Pneumothorax. Im Dunkelfeldbild stellte sich der Pneumothorax als signalfreies Areal dar, welches einen ausgezeichneten Kontrast zur benachbarten, deutlich streuenden Lunge zeigte (Abbildung 7). Zur Bestimmung des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses zwischen dem Areal des Pneumothorax und dem der benachbarten Lunge, wurden

in die Transmissions- und korrespondierenden Dunkelfeldbilder für beide Areale regions of interest (ROI) eingezeichnet. Die Messungen ergaben ein signifikant erhöhtes Signal-zu-



Rausch-Verhältnis für die Dunkelfeldbildgebung ( $8,4 \pm 3,5$ ) verglichen mit der Transmissionsbildgebung ( $5,1 \pm 2,8$ ) ( $p = 0,039$ ; jeweils Mittelwert und Standardabweichung). Um zu überprüfen, ob sich das erhöhte Signal-zu-Rausch-Verhältnis in der Dunkelfeld-Bildgebung auch in einer verbesserten Detektion der Pneumothoraces verglichen mit der Transmissions-Bildgebung widerspiegeln würde, wurde im Anschluss eine Reader-Studie durchgeführt. Die Studie ergab eine signifikant verbesserte diagnostische Genauigkeit in der Detektion der Pneumothoraces im Dunkelfeld (Sensitivität 95,0%, Spezifität 99,0%) verglichen mit der Transmission (Sensitivität 75,0%, Spezifität 95,0%),  $p = 0,04$ . Neben der diagnostischen Genauigkeit wurde auch die subjektiv empfundene diagnostische Sicherheit der Reader abgefragt. Hier zeigte sich ein signifikanter Anstieg ( $p < 0.001$ ). Auch die Interrater-Reliabilität stieg von moderat für die Transmissionsbildgebung (Cohen  $\kappa$  Koeffizient  $> 0,41$ ) auf sehr gut für die Dunkelfeldbildgebung (Cohen  $\kappa$  Koeffizient  $> 0,8$ ). Die Studie konnte zeigen, dass die Dunkelfeldbildgebung die Diagnose von Pneumothoraces im Kleintiermodell verbessert (Hellbach K et al., 2016).

### 4.3 Anwendung am Großtiermodell: Pneumothorax

#### 4.3.1 Technische Voraussetzungen

Nachdem der diagnostische Wert der Dunkelfeld-Radiographie für unterschiedliche pulmonale Pathologien am Kleintiermodell demonstriert werden konnte, sollte im Anschluss die Translation der Gitter-basierten Röntgenbildgebung hin zum Großtiermodell erfolgen. Dieser Schritt ist unabdingbar, bedenkt man eine mögliche klinische Implementation der Methode. Hierzu mussten einige Voraussetzungen erfüllt werden:

- a) Die applizierte Strahlendosis sollte auf ein Minimum reduziert werden.
- b) Dennoch muss die Strahlung Objekte penetrieren können, deren Durchmesser mit dem Thoraxdurchmesser eines Menschen vergleichbar sind.
- c) Die Möglichkeit zur Abbildung eines großen Field-of-view (FOV) ist Grundvoraussetzung.
- d) Die Scanzeit sollte möglichst kurz sein und nicht länger als ein Atemanhalte-Zyklus dauern.
- e) Eine diagnostische Bildqualität möglichst frei von Artefakten (beispielsweise durch den Herzschlag) muss gewährleistet sein.

Diese Anforderungen wurden durch die Entwicklung eines Prototyps für die Dunkelfeld-Radiographie großer Objekte erfüllt (Gromann et al., 2017). Die Röntgenröhre wurde mit einer Spannung von 70 kVp, einer Leistung von 450 mA und mit einer Pulsfrequenz von 12 Hz betrieben (Philips SRO 1750 ROT 360, Philips Medical Systems, Hamburg, Deutschland). Ein Pixium RF4343 Flachbilddetektor (Trixell, Moirans, Frankreich) mit einer effektiven Pixelgröße von 360  $\mu\text{m}$  wurde in das System verbaut, genau wie das Gitter-Interferometer, bestehend aus drei Gittern: dem Quellgitter (G0, Fläche:  $5.0 \times 2.5 \text{ cm}^2$ , Periode: 68.72  $\mu\text{m}$ ), dem Phasengitter (G1, Periode: 8.73  $\mu\text{m}$ ) und dem Analyse-Gitter (G2, Periode: 10  $\mu\text{m}$ ). Die G1 und G2 Gitter bestehen aus je acht aneinander gereihten Gittern, von denen jedes eine

Fläche von  $5 \times 2.5 \text{ cm}^2$  aufweist (Schroeter TJ et al., 2017). Der Abstand zwischen der Röntgenquelle und dem Detektor beträgt zwei Meter. Die Distanz zwischen G0 und G1 ist im vorliegenden Aufbau 1,6 m, der Abstand zwischen G1 und G2 0,25 m. Die Größe des FOV dieses Scanners beträgt  $32 \times 35 \text{ cm}^2$ , ist also groß genug, um einen menschlichen Thorax abzubilden. Die Zeit für einen Scan über das gesamte FOV beträgt circa 35 Sekunden. Die applizierte Röntgendosis ist mit einem Dosisflächenprodukt (DAP) von 0,5  $\text{Gy} \cdot \text{cm}^2$  akzeptabel.

#### 4.3.2 Dunkelfeld-Bildgebung am lebenden Schwein: Pneumothorax

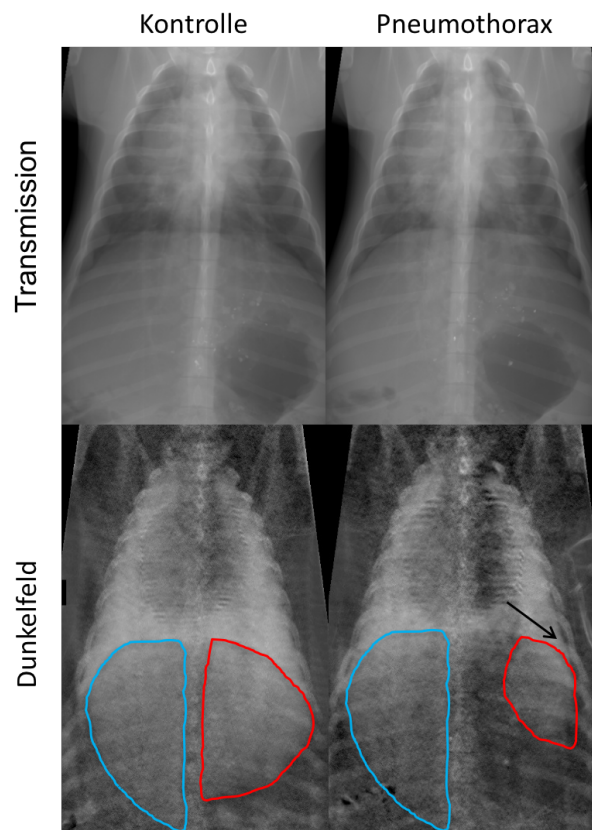
Zur Darstellung pulmonaler Pathologien mittels Dunkelfeld-Radiographie am Großtierscanner wurden nach offizieller Genehmigung des hierzu gestellten Tierversuchsantrags sowohl *ex vivo* ( $n = 3$ ) als auch *in vivo* ( $n = 5$ ) Pneumothoraces am Schweinmodell (Deutsche Landrasse, Gewicht  $25,8 \pm 5,9$  kg; Alter 2,5 – 3,0 Monate, anterior-posteriorer Thoraxdurchmesser  $20,2 \pm 2,3$  cm) induziert. Die *ex vivo* Tiere wurden unmittelbar vor der Anfertigung der Röntgenbilder getötet und intubiert. Schweine, die *in vivo* gemessen wurden, mussten hierzu anästhesiert und ebenfalls intubiert werden. Die mechanische Beatmung der Tiere erfolgte mit einer Atemfrequenz von 12 Atemzügen/min, einem Atemvolumen von 15 ml/kg Körpergewicht, und einem PEEP (positive end-expiratory pressure) von 2 mbar. Die Narkose wurde mittels kontinuierlicher Propofol-Gabe über eine Spritzenpumpe aufrechterhalten. Während des gesamten Versuchs wurden sowohl der Sauerstoffgehalt im Blut als auch die Herzfrequenz der Tiere mit einem Pulsoxymeter überwacht. Um sicherzustellen, dass die akquirierten Aufnahmen frei von Atemartefakten sind, wurde die Beatmung der Tiere bei einem konstanten Atemwegsdruck von 12 mbar für die Dauer eines Scanvorgangs gestoppt. Da die Tiere auf dem Bauch gelagert wurden, erfolgte die Aufnahme der Röntgenbilder in posterior-anteriorem (p.a.) Strahlengang. Die Lungen der Schweine wurden unmittelbar vor und nach der Induktion eines unilateralen Pneumothorax gescannt. Die Induktion des Pneumothorax erfolgte, nachdem auf Höhe der vorderen Axillarlinie der Schweine, zwischen dem fünften bis siebten Interkostalraum ein schmaler Hautschnitt gesetzt wurde, über den im Anschluss ein dünner Katheter in den Pleuraraum vorgeschoben wurde. Über diesen Katheter konnten dann zwischen 50 und 500 ml Luft insuffliert werden, was zur Entstehung unterschiedlich stark ausgeprägter, unilateraler Pneumothoraces führte. Im Anschluss an die Bildgebung im Großtierscanner wurden die Tiere getötet und deren Lungen zur Etablierung eines

Referenzstandards unmittelbar danach computertomographisch erfasst (GE Discovery CT750, General Electrics Healthcare, USA). Korrespondierend zur Auswertung der Pneumothoraces am Mausmodell wurden zur Bestimmung des Kontrast-zu-Rausch-Verhältnisses (CNR) zwischen dem Areal des Pneumothorax und dem der benachbarten Lunge in die Transmissions- und Dunkelfeldbilder regions of interest (ROI) eingezeichnet. Die Berechnung des CNR erfolgte mit der Gleichung:

$$CNR = \frac{|\bar{x}_{Lunge} - \bar{x}_{Pneumothorax}|}{\sqrt{\sigma_{Lunge}^2 + \sigma_{Pneumothorax}^2}}$$

wobei  $\bar{x}_{Lunge}$  sowie  $\bar{x}_{Pneumothorax}$  die Mittelwerte der ROI-Signale von gesunder Lunge beziehungsweise Pneumothorax darstellen, und  $\sigma_{Lunge}$  sowie  $\sigma_{Pneumothorax}$  die korrespondierenden Standard-Abweichungen sind. Die Analyse des Dunkelfeld- und Transmissions-Signals im Bereich des Pneumothorax (n = 6) ergab ein signifikant erhöhtes CNR des Dunkelfeld- ( $3,65 \pm 0,9$ ) gegenüber dem Transmissions-Signal ( $1,13 \pm 1,1$ ) (p = 0,002), sodass auch kleine, seitliche Pneumothoraces, welche im Transmissionsbild okkult blieben, im korrespondierenden Dunkelfeldbild sichtbar waren (**Abbildung 8**). Im Fall von n = 2 Lungen konnte trotz genauester Analyse der Transmissions- und der Dunkelfeld-Scans kein seitlicher Pneumothorax detektiert werden, obwohl in den Pleuraraum dieser Tiere 50 und 150 ml Luft souffliert wurde. Dies ist gerade dann, wenn Röntgenbilder von Patienten in liegender Position aufgenommen werden, ein häufig zu beobachtendes Phänomen. Da Luft in der Regel nach oben steigt, sammelt sie sich meist an der höchsten Stelle des Thorax. Da die Tiere in Bauchlage gescannt wurden, akkumulierte die Luft in diesen Fällen in den dorsobasalen Anteilen der Pleura, also in einem Areal, das hinter dem Zwerchfell und den Oberbauchorganen lokalisiert ist. Bei genauer Betrachtung der Dunkelfeld-Aufnahmen fiel auf, dass die dorsobasalen Lungenanteile ein schwaches, aber deutlich sichtbares Dunkelfeldsignal generierten. Nach Induktion des Pneumothorax verkleinerte

sich die Fläche der belüfteten und damit streuenden dorsobasalen Lungenanteile auf der



**Abbildung 8:** In vivo Abbildung einer Schweinelunge vor (links) und nach Induktion (rechts) eines linksseitigen unilateralen Pneumothorax. Dieser ist in der Transmissions-Bildgebung (obere Reihe) nicht sichtbar. In der Dunkelfeld-Bildgebung (untere Reihe) zeigt sich der laterale Anteil des Pneumothorax (Pfeil) anhand eines dunklen Areals zwischen der hellen, streuenden Lunge und den Rippen. Außerdem sind die kollabierten, dorsobasalen Anteile der Lunge unmittelbar sichtbar: Vergleich der rot umrandeten Fläche, die nach Induktion des Pneumothorax deutlich kleiner ist, mit der Gegenseite (blau umrandete Fläche), die größenkonstant bleibt. (aus Hellbach K et al., 2018)

Seite des Pneumothorax im Gegensatz zur gesunden Gegenseite signifikant ( $p < 0.0001$ ), ein sicheres Zeichen für das Vorliegen eines Pneumothorax, der zum Kollaps des Lungenparenchyms führte (**Abbildung 8**). In den korrespondierenden Transmissions-Aufnahmen zeigte sich lediglich eine leichte Transparenzzunahme im Bereich der basalen Lunge mit einer konsekutiv scharfer abgrenzbaren, basalen thorakalen Begrenzung, was ein diskretes, indirektes Zeichen für das Vorliegen eines Pneumothorax darstellt: das sogenannte deep sulcus sign (Gordon R, 1980). Wir konnten also feststellen, dass auf Grund der direkten Visualisierung des Lungengewebes im Dunkelfeldscan dorsobasal lokalisierte Pneumothoraces leichter zu diagnostizieren waren. Für die Pathologie „Pneumothorax“ bestätigen sich die Beobachtungen aus den

Versuchen am Kleintiermodell: Durch die zusätzliche Bildinformation aus den Dunkelfeldaufnahmen können pulmonale Pathologien auch am Großtiermodell besser detektiert werden (Hellbach K et al., 2018).

## **5 Zusammenfassung und Ausblick**

Dieses Habilitationsprojekt beschäftigt sich mit der gitterbasierten Dunkelfeldradiographie zur Diagnostik pulmonaler Pathologien am Tiermodell. Im Rahmen der durchgeführten Studien konnte gezeigt werden, dass die Translation vom Kleintier- zum Großtiermodell möglich ist. Dies ist ein wichtiger Schritt hin zur geplanten klinischen Implementierung der Methode.

Die Dunkelfeld-Radiographie ist eine noch recht junge Röntgentechnik, mit deren Hilfe sich die Streuung von Röntgenstrahlen beim Durchtritt durch Gewebe messen lässt. Die Lunge eignet sich für die Dunkelfeld-Bildgebung, da sie auf Grund ihrer alveolären Mikrostruktur viele Luft-Gewebe-Grenzflächen aufweist, an denen es zur Kleinwinkel-Streuung von Röntgenstrahlen kommt. Die gesunde Pulmo ist durch ein starkes, homogenes Dunkelfeld-Signal gekennzeichnet. Ist die alveoläre Mikrostruktur geschädigt, wie das bei einem Emphysem oder fibrotischen Veränderungen der Fall ist, fällt das Dunkelfeld-Signal ab.

Unsere Ergebnisse am Kleintiermodell machen deutlich, dass eine verbesserte und frühzeitigere Diagnosestellung des Lungenemphysems und der Lungenfibrose möglich ist, sobald neben den konventionellen Transmissionsbildern auch Dunkelfeld-Aufnahmen des Thorax analysiert werden. Dies beruht im Wesentlichen auf der deutlich erhöhten Sensitivität der Dunkelfeld-Radiographie für die Darstellung destrukturierter Lungenareale.

Ein weiterer wichtiger Aspekt dieser Arbeit besteht in der Translation der Dunkelfeld-Radiographie vom Kleintier- zum Großtiermodell. So konnte zum einen gezeigt werden, dass die Dunkelfeld-Bildgebung von Objekten mit einer Größe, die der eines erwachsenen Menschen ähnelt, prinzipiell möglich ist. Zum anderen weisen die Ergebnisse der Pneumothorax-Studie am Schwein darauf hin, dass – korrespondierend zur entsprechenden Kleintier-Studie – die Diagnostik dieser Erkrankung durch den Einsatz der



Dunkelfeld-Bildgebung, und der damit verbundenen, direkten Visualisierung des Lungenparenchyms, deutlich erleichtert wird.

Bevor diese Technik am Patienten angewendet werden kann, gilt es jedoch, einige Herausforderungen zu meistern: Die Scandauer des vorgestellten Prototyps beträgt ca. 35 Sekunden. Dies ist insbesondere für ältere, pulmonal eingeschränkte Patienten problematisch, da diese in der Regel nicht über einen solch verhältnismäßig langen Zeitraum den Atem anhalten können. Um Atemartefakte zu vermeiden, sollte die Bildgebung eine Dauer von fünf Sekunden nicht überschreiten. Das Dosisflächenprodukt (DAP) pro Scan beträgt  $0,5 \text{ Gy} \cdot \text{cm}^2$ . Die so applizierte Strahlendosis ist ca. sechsmal höher als die einer konventionellen p.a.-Röntgenaufnahme des Thorax (Hellbach K et al., 2018), was in Anbetracht der Zusatzinformation durch die Dunkelfeld-Komponente (und durch die in dieser Arbeit nicht näher betrachtete Phasenkontrast-Information) akzeptabel erscheint. Im Gegensatz zur konventionellen Röntgenaufnahme des Thorax, bei der eine Röhrenspannung von ca. 120 kVp verwendet wird (McAdams HP et al., 2006), wurde in unserem Setup aus Gründen der Maximierung der Visibilität des Dunkelfeld-Signals eine Röhrenspannung von 70 kVp verwendet. Weitere Entwicklungen zur Anpassung der Röhrenspannung an die konventionelle Aufnahme-Technik sind wünschenswert.

Sollte es zur Zulassung eines Phasenkontrast-Röntgengeräts für die klinische Anwendung kommen, könnte die konventionelle Röntgen-Bildgebung von Patienten mit verschiedenen pulmonalen Pathologien deutlich verbessert werden, und diese damit frühzeitiger einer Therapie zugeführt werden. Zudem stellen die vorgestellten Studien über die Röntgenbildgebung eine wichtige Grundlage für weiterführende Forschungsarbeiten zur Dunkelfeld- und Phasenkontrast-Computertomographie dar.

## 6 Literaturverzeichnis

- Aitchison F, Bleetman A, Munro P, et al. Detection of pneumothorax by accident and emergency officers and radiologists on single chest films. Arch Emerg Med. 1993.
- Ball CG, Ranson K, Dente CJ, et al. Clinical predictors of occult pneumothoraces in severely injured blunt polytrauma patients: A prospective observational study. Injury. 2009 Jan;40(1):44-7.
- Bech M, Tapfer A, Velroyen A, et al. In-vivo dark-field and phase-contrast x-ray imaging. Sci Rep. 2013;3:3209.
- Brar MS, Bains I, Brunet G, et al. Occult pneumothoraces truly occult or simply missed: redux. J Trauma. 2010 Dec;69(6):1335-7.
- Brown SE, Macanovic M, Williams MP. Oxygen reservoir bags simulating chest pathology: a case series. J Emerg Med. 2012 Dec;43(6):1045-8.
- Bundesamt für Strahlenschutz. (<https://www.bfs.de/DE/themen/ion/anwendung-medizin/diagnostik/roentgen/haeufigkeit-exposition.html>). [Online abgerufen am 03.10.2018].
- Caminati A, Cassandro R, Torre O, et al. Severe idiopathic pulmonary fibrosis: what can be done? Eur Respir Rev. 2017 Sep 27;26(145).
- Chiodera P. Idiopathic interstitial lung disease: anatomoradiologic pathogenesis. Rays. 1997 Jan-Mar;22(1):127-56
- Choi WI. Pneumothorax. Tuberc Respir Dis (Seoul). 2014;76:99–104.
- Chung JH, Goldin JG. Interpretation of HRCT Scans in the Diagnosis of IPF: Improving Communication Between Pulmonologists and Radiologists. Lung. 2018 Oct;196(5):561-567.

Cosio Piqueras MG, Cosio MG. Disease of the airways in chronic obstructive pulmonary disease. Eur Respir J Suppl. 2001 Dec;34:41s-49s.

de Moya MA, Seaver C, Spaniolas K, et al. Occult pneumothorax in trauma patients: development of an objective scoring system. J Trauma. 2007;63(1):13-7.

Dept of Health and Human Services; Atlanta, GA: 2014. The Health Consequences of Smoking—50 Years of Progress: A Report of the Surgeon General. <https://www.surgeongeneral.gov/library/reports/50-years-of-progress/full-report.pdf>

Devaraj A. Imaging: how to recognise idiopathic pulmonary fibrosis. Eur Respir Rev. 2014;23(132):215-9.

European respiratory society. The Economic burden of lung disease. European lung white book. (2018).

George TJ, Arnaoutakis GJ, Shah AS. Lung transplant in idiopathic pulmonary fibrosis. Arch Surg. 2011;146(10):1204-9.

Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) Global strategy for diagnosis, management, and prevention of COPD. 2014. [www.goldcopd.org](http://www.goldcopd.org)

Goldin JG. Imaging the lungs in patients with pulmonary emphysema. J Thorac Imaging. 2009;24:163-170.

Gordon R. The deep sulcus sign. Radiology 136, 25–27 (1980).

Gromann LB, De Marco F, Willer K, et al. In-vivo X-ray Dark-Field Chest Radiography of a Pig. Sci Rep. 2017;7(1):4807.

- Guan WJ, Zheng XY, Chung KF, et al. Impact of air pollution on the burden of chronic respiratory diseases in China: time for urgent action. *Lancet*. 2016 Oct 15;388(10054):1939-1951.
- Haynes D, Baumann MH. Management of pneumothorax. *Semin Respir CritCare Med*. 2010;31:769–780.
- Hellbach K, Bähr A, De Marco F, et al. Depiction of pneumothoraces in a large animal model using x-ray dark-field radiography. *Sci Rep*. 2018 Feb 8;8(1):2602.
- Hellbach K, Beller E, Schindler A, et al. Improved detection of foreign bodies on radiographs using X-ray dark-field and phase-contrast imaging. *Invest Radiol*. 2018 Jun;53(6):352-356.
- Hellbach K, Meinel FG, Conlon TM, et al. X-ray dark-field imaging to monitor the development of acute lung inflammation in Mice. *Sci Rep*. 2017 Jul 6;7(1):4807.
- Hellbach K, Yaroshenko A, Willer K, et al. Facilitated Diagnosis of Pneumothoraces in Newborn Mice Using X-ray Dark-Field Radiography. *Invest Radiol*. 2016;51(10):597-601.
- Hellbach K, Yaroshenko A, Willer K, et al. X-ray dark-field radiography facilitates the diagnosis of pulmonary fibrosis in a mouse model. *Sci Rep*. 2017;7(1):340.
- Hellbach K, Yaroshenko A, Meinel FG, et al. In Vivo Dark-Field Radiography for Early Diagnosis and Staging of Pulmonary Emphysema. *Invest Radiol*. 2015;50(7):430-5.
- Jacob J, Hansell DM. HRCT of fibrosing lung disease. *Respirology*. 2015 Aug;20(6):859-72.
- Lewis RA. Medical phase contrast x-ray imaging: current status and future prospects. *Phys Med Biol*. 2004;49(16):3573-83.

- Marchetti N, Criner GJ. Surgical Approaches to Treating Emphysema: Lung Volume Reduction Surgery, Bullectomy, and Lung Transplantation. *Semin Respir Crit Care Med*. 2015 Aug;36(4):592-608.
- Marçôa R, Rodrigues DM, Dias M, et al. Classification of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) according to the new Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2017: Comparison with GOLD 2011. *COPD*. 2018 Feb;15(1):21-26.
- Martinez FJ, Flaherty K. Pulmonary Function Testing in Idiopathic Interstitial Pneumonias. *Proc Am Thorac Soc*. 2006 Jun; 3(4): 315–321.
- McAdams HP, Samei E, Dobbins J, et al. Recent Advances in Chest Radiography. *Radiology*. 2006;241:663–683.
- Meinel FG, Yaroshenko A, Hellbach K, et al. Improved diagnosis of pulmonary emphysema using in vivo dark-field radiography. *Invest Radiol*. 2014;49(10):653-8.
- Miniati M, Monti S, Stolk J, et al. Value of chest radiography in phenotyping chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2008;31:509-515.
- Noppen M, Alexander P, Driesen P, et al. Manual aspiration versus chest tube drainage in first episodes of primary spontaneous pneumothorax: a multicenter, prospective, randomized pilot study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165: 1240–1244.
- Omar HR, Abdelmalak H, Mangar D et al. Occult pneumothorax, revisited. *J Trauma Manag Outcomes*. 2010 Oct; 29;4:12.
- Pfeiffer F, Bech M, Bunk O, et al. Hard-X-ray dark-field imaging using a grating interferometer. *Nat Mater*. 2008;7(2):134-7.
- Pfeiffer F, Weitkamp T, Bunk O, et al. Phase retrieval and differential phase-contrast imaging with low-brilliance X-ray sources. *Nature physics*. 2006;2(4): 258-61.

- Raghu G, Collard HR, Egan JJ, et al; ATS/ERS/JRS/ALAT Committee on Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 Mar 15;183(6):788-824.
- Rankine JJ, Thomas AN, Fluechter D. Diagnosis of pneumothorax in critically ill adults. *Postgrad. Med. J*. 2000;76, 399–404 (2000)
- Roberts DJ, Leigh-Smith S, Faris PD, et al. Clinical presentation of patients with tension pneumothorax: a systematic review. *Ann Surg*. 2015;261:1068–1078.
- Salvatore M, Smith ML. Cross sectional imaging of pulmonary fibrosis translating pathology into radiology. *Clin Imaging*. 2018 Sep - Oct;51:332-336.
- Sandhaus RA, Turino G, Brantly ML, et al. The Diagnosis and Management of Alpha-1 Antitrypsin Deficiency in the Adult. *Chronic Obstr Pulm Dis*. 2016 Jun 6; 3(3):668-682.
- Scherer K, Yaroshenko A, Bölükbas DA, et al. X-ray Dark-field Radiography - In-Vivo Diagnosis of Lung Cancer in Mice. *Sci Rep*. 2017 Mar 24;7(1):402
- Schröter TJ, Koch FJ, Meyer P, et al. Large field-of-view tiled grating structures for X-ray phase-contrast imaging. *Rev Sci Instrum*. 2017 Jan;88(1):015104.
- Sharma A, Jindal P. Principles of diagnosis and management of traumatic pneumothorax. *J Emerg Trauma Shock*. 2008;1:34–41.
- Sodickson A, Baeyens PF, Andriole KP, et al. Recurrent CT, cumulative radiation exposure, and associated radiation-induced cancer risks from CT of adults. *Radiology*. 2009;251(1):175-84.

- Sverzellati N, Lynch DA, Hansell DM, et al. American Thoracic Society - European Respiratory Society Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias: Advances in Knowledge since 2002. *Radiographics*. 2015 Nov-Dec;35(7):1849-71.
- Tapfer A, Bech M, Velroyen A, et al. Experimental results from a preclinical x-ray phase-contrast CT scanner. *Proc Natl Acad Sci*. 2012;109:15691–15696.
- Velroyen A, Yaroshenko A, Hahn D, et al. Grating-based X-ray Dark-field Computed Tomography of Living Mice. *EBioMedicine*. 2015 Aug 13;2(10):1500-6.
- Washko GR. Diagnostic imaging in COPD. *Semin Respir Crit Care Med*. 2010;31:276-285.
- Wedzicha JA, Singh R, Mackay AJ. Acute COPD exacerbations. *Clin Chest Med*. 2014 Mar;35(1):157-63.
- WHO. Global Health Estimates 2016. Deaths by cause, age, sex, by country and by region. 200-2016. Geneva.
- Yaroshenko A, Hellbach K, Yildirim AO, et al. Improved In vivo Assessment of Pulmonary Fibrosis in Mice using X-Ray Dark-Field Radiography. *Sci Rep*. 2015;5:17492.
- Yaroshenko A, Meinel FG, Bech M, et al. Pulmonary emphysema diagnosis with a preclinical small-animal X-ray dark-field scatter-contrast scanner. *Radiology*. 2013;269(2):427-33.
- Yaroshenko A, Pritzke T, Koschlig M, et al. Visualization of neonatal lung injury associated with mechanical ventilation using x-ray dark-field radiography. *Sci Rep*. 2016 Apr 13;6:24269.

## **7 Danksagung**

An erster Stelle möchte ich meiner Mutter und Volker dafür danken, dass ihr mich zu jeder Zeit unterstützt und mir in schwierigen Situationen immer zur Seite steht.

Herrn Prof. Dr. Jens Ricke gilt mein Dank dafür, dass er dieses Habilitationsverfahren als geschäftsführender Fachmentor angenommen und mich während meiner Ausbildung an seiner Klinik unterstützt hat. Auch bei Herrn Prof. Dr. Julien Dinkel und Herrn Prof. Dr. Jürgen Behr möchte ich mich ganz herzlich für Ihre Bereitschaft bedanken, das Fachmentorat für meine Habilitation zu übernehmen und mich zudem für die klinischen Aspekte der thorakalen Bildgebung begeistert zu haben.

Ein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Maximilian Reiser, der mir Tür und Tor in die Welt der Radiologie öffnete, und mich stets in fachlicher sowie in wissenschaftlicher Hinsicht förderte. Ich habe mich an Ihrem Institut sowohl als Mitarbeiter aber insbesondere auch als Mensch wertgeschätzt gefühlt.

Vielen Dank auch an Frau Prof. Dr. Birgit Ertl-Wagner, die stets ein offenes Ohr für meine Sorgen fand und mir viele hilfreiche Ratschläge zuteilwerden ließ.

Herrn PD Dr. Felix Meinel, meinem langjährigen Mentor und gutem Freund, möchte ich dafür danken, dass er mich in seine Forschungsgruppe aufnahm, mich stets förderte und mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand.

Die in dieser Habilitation durchgeführten Forschungsarbeiten waren nur durch eine enge Kooperation mit außerklinischen Partnern möglich. Hier gilt mein ganz besonderer Dank Herrn Prof. Dr. Franz Pfeiffer (Physik Department und Munich School of BioEngineering, TUM München) und den (zum Teil bereits ehemaligen) Mitgliedern seiner Arbeitsgruppe, insbesondere Herrn Dr. Andre Yaroshenko, Herrn Konstantin Willer, Herrn Fabio De Marco, Herrn Dr. Lukas Gromann und Frau Prof. Dr. Julia Herzen. Vielen Dank auch an Herrn Prof. Dr. Oliver Eickelberg, Herrn Dr. Ali Önder Yildirim und Herrn Dr. Thomas Conlon (Helmholtz



Zentrum München) sowie an Frau Dr. Andrea Bähr und Frau Dr. Michaela Dmochewitz (Lehrstuhl für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie, Tierärztliche Fakultät, LMU München) für die wertvolle Zusammenarbeit.

Die vorliegende Habilitation wäre ohne das Projektmanagement-Team nicht möglich gewesen. Hier gilt mein Dank insbesondere Frau Dr. Sigrid Auweter, Frau Dr. Sabine Sellner, Frau Dr. Sonja Selder, Frau Nathalie Thäns sowie Frau Juliane Bock.

Dem Deutschen Zentrum für Lungenforschung und der Hans und Klementia Langmatz Stiftung danke ich für die Förderung meiner Forschungstätigkeit.